Smithsonian Tropical Research Institute

Minera Panamá

PROYECTO MINA DE COBRE PANAMÁ

ESTUDIO DE IMPACTO AMBIENTAL (EsIA)

CATEGORIA III

INFORME TRIMESTRAL DEL PROYECTO DE CONSERVACIÓN EX SITU DE ESPECIES DE INTÉRES DE ANFIBIOS

Compromisos de EsIA Aplicables	Periodo reportado	Elaborado por	Fecha de Emisión del Reporte
13202, 13207 13208, 13212 13221, 13223 13232, 13233	**Agosto-Octubre**	**INSTITUTO SMITSONIAN DE INVESTIGACIONES TROPICALES**	**03/11/2016**

INFORME TRIMESTRAL DEL PROYECTO

"PROPUESTA PARA LA EXTENSIÓN DE LA CONSERVACIÓN EX-SITU DE RANAS DEL ÁREA DE DONOSO POR DOS AÑOS"

Período: Agosto-Octubre 2016

Por: Roberto Ibáñez D., Proyecto de Rescate y Conservación de Anfibios de Panamá, Smithsonian Tropical Research Institute (STRI)

Fecha: 3 de noviembre de 2016

Introducción

El 1 de junio de 2015, Minera Panamá S.A. (MPSA) y el Instituto Smithsonian de Investigaciones Tropicales (STRI) firmaron un acuerdo con el fin de extender el proyecto de conservación ex situ de anuros del área de Donoso por 2 años. Con este acuerdo se realizarán esfuerzos de conservación e investigación que contribuirán al manejo y preservación de los anfibios de Donoso, enfocándose en las especies de interés (EdI). Este proyecto es coordinado por el Proyecto de Rescate y Conservación de Anfibios de Panamá (PARC) y es llevado a cabo en dos instalaciones para la conservación de este amenazado grupo de vertebrados: (1) el Centro de Conservación de Anfibios de El Valle (EVACC), y (2) el Centro de Investigación y Conservación de Anfibios de Gamboa (Gamboa-ARCC). En este informe se presentan los avances, según los objetivos acordados de este proyecto, realizados durante el período Agosto-Octubre de 2016.

Objetivo 1. – Mejorar los procedimientos y tácticas para el manejo de los anfibios, desarrollando mejores prácticas para la conservación ex situ de anfibios en riesgo.

En estos meses, no recibimos solicitudes de los oficiales de la autoridad de la lista roja de anfibios de la UICN SSC, para revisar mapas e información de las especies evaluadas en el taller que llevamos a cabo el 23 de octubre de 2015, con el propósito de realizar las modificaciones pertinentes a la información disponible en línea sobre estas especies (http://www.iucnredlist.org/initiatives/amphibians).

Objetivo 2. – Llevar a cabo expediciones para recolectar especies de anfibios en riesgo en el área de Donoso.

Durante este período, se llevaron a cabo dos expediciones con la intención de buscar y colectar individuos principalmente de tres Especies de Interés (EdI): *Atelopus varius*, *Craugastor evanesco* y *Gastrotheca cornuta*, dentro del área de desarrollo del Proyecto Mina de Cobre Panamá, distrito de Donoso, provincia de Colón. Estas expediciones se realizaron del 6 al 15 de septiembre y del 11 al 20 de octubre de 2016. En esta expedición, Rigoberto Díaz y Edgardo Griffith recolectaron individuos fundadores para el programa de conservación ex situ.

Los individuos que nos entregaron en Mayo-Julio, luego de estar en cuarentena, fueron depositados en nuestros centros, de la manera siguiente: 1 macho de *A. varius* y 1 juvenil de *C. evanesco* en Gamboa-ARCC y 1 macho de *G. cornuta* en EVACC. En la expedición del mes de septiembre, se recolectaron una pareja y un juvenil de *A. varius* en la Quebrada Valle Grande y 7 individuos de *C. evanesco* en la cabecera del Río Petaquilla, los cuales fueron depositadas en el EVACC. Durante la expedición del mes de octubre, se colectaron un juvenil de *A. varius* en la Quebrada Valle Grande, 2 individuos de *C. evanesco* en la cabecera del Río Petaquilla y 5 machos de *G. cornuta* en los sitios 4CS4 y 4CS6.

Debido a que tuvimos algunos inconvenientes, durante el reemplazo del equipo de qPCR, próximamente estaremos procesando las muestras de piel para detectar la presencia del hongo patógeno de los anfibios, *Batrachochytrium dendrobatidis*, a partir de los hisopos obtenidos de los individuos que fueron encontrados en el campo durante estas dos expediciones.

Los individuos que ingresaron al salón de cuarentena en EVACC, fueron tratados como en el trimestre pasado. A los individuos de *C. evanesco* y *G. cornuta* se les aplicó el tratamiento preventivo con Itraconazol, no así en el caso de los individuos de *A. varius*. A éstos se les trató con el tratamiento experimental (i.e., Itraconazol y Betadine). Adicionalmente, les dio seguimiento a cada uno de los individuos del salón de cuarentena, a través de hisopados de la piel y pruebas de qPCR frecuentes para detectar la presencia del *B. dendrobatidis*. La supervivencia de los individuos que ingresaron a cuarentena en estos meses ha sido del 100%. No observamos aparición de lesiones por el hongo *Fusarium keratoplasticum* en la piel de estas ranas. Actualmente, todos los individuos que ingresaron al salón de cuarentena del EVACC, en el mes de septiembre, se encuentran con el resto de la colección viva de anfibios.

Objetivo 3. – Completar y mantener instalaciones para la cría y reproducción de poblaciones en cautividad de las especies de anfibios de interés de Donoso (fondos para dos años adicionales).

Macho de *Atelopus varius* de la Quebrada Valle Grande. Septiembre 2016.

Con el propósito de mejorar la cría y reproducción de anfibios en cautiverio, hemos continuado invirtiendo en la capacitación de personal local. A finales de este período, inició una pasante nueva, Jennifer Warren, estudiante panameña de biología, en el Gamboa-ARCC. Ella será capacitada y esperamos poder considerarla cuando se abran vacantes en el proyecto. Adicionalmente, durante los días 19 al 26 de septiembre tuvimos la visita de trabajo de dos médicos veterinarios especializados en anfibios y asociados al proyecto PARC: Eric Klaphake (Cheyenne Mountain Zoo) y Allan Pessier (Washington State University). Los propósitos de su visita fueron: (1) examinar las colecciones de animales vivos del EVACC y Gamboa-ARCC para evaluar los procedimientos que se siguen en el cuidado de los anfibios y el estado general de su salud en ambos centros; (2) tratar animales enfermos; (3) iniciar investigaciones para establecer las causas y proponer acciones para las dolencias que se padecen los anfibios de ambos centros con mayor frecuencia, como lo son edema, Spindly Leg Syndrome (SLS), dermatitis por hongos (i.e., *F. keratoplasticum* y *B. dendrobatidis*), problemas en la córnea, entre otros; (5) obtener y exportar muestras para

realizar exámenes de necropsia e histopatología; (6) orientar y capacitar a médicos veterinarios panameños en el cuidado de los anfibios, en esta ocasión con las Dras. Stephanie Forero y Diorene Smith; y (7) hacer recomendaciones para mejorar el trabajo que se realiza en EVACC y Gamboa-ARCC.

Se han hecho algunas reparaciones en el EVACC, relacionadas a los aires acondicionados y generador eléctrico de respaldo. Se recibieron los materiales ordenados, tales como anaqueles, tanques de vidrio, partes del sistema de rociadores y herramientas, con el fin de ampliar y mejorar nuestra capacidad para albergar anfibios y producción de insectos en EVACC y Gamboa-ARCC. En Gamboa-ARCC hemos estado trabajando y estamos por completar el equipamiento de dos contenedores para mantener y reproducir ranas, uno para ranas de la familia Dendrobatidae del área de Donoso y otro para individuos del género *Atelopus*. También, estamos explorando la posibilidad en construir una pequeña edificación (400-500 m^2) para la producción de insectos en Gamboa-ARCC, de esta forma se podrían liberar dos contenedores para usarlos para albergar anfibios. En EVACC, se aumentó el número de tanques destinados a la reproducción y para el mantenimiento de individuos de *Atelopus varius* y *Craugastor evanesco.* Durante este período, se continuaron las consultas, entre las entidades miembro del proyecto PARC y con el Ministerio de Ambiente, relacionadas a la adecuación y el futuro del EVACC. Además, internamente, se han estado revisando los contratos de arrendamiento entre el STRI y Hacienda El Níspero, S.A., con el propósito de llegar a un acuerdo entre ambas partes para que EVACC continúe operando dentro del Zoológico El Níspero.

La producción de invertebrados se ha mantenido al nivel requerido, tanto en EVACC como Gamboa-ARCC, donde se producen principalmente grillos, dos especies de moscas de la frutas, colémbolos y cucarachas para alimentar a las poblaciones de anfibios en cautiverio. Ambas instalaciones están produciendo invertebrados muy cerca de su capacidad máxima, por encima de las necesidades de alimento; por consiguiente, consideramos que, por ahora, podremos alimentar adecuadamente a los anfibios que mantenemos en el programa ex situ y que estamos preparados para afrontar alguna disminución temporal inesperada en la producción de su alimento. Adicionalmente, se elaboró un plan de alimentación para las etapas de la población de ranas de la especie *Atelopus varius*.

Los números de individuos de las poblaciones en cautiverio de las especies de anuros, procedentes del área de Donoso, que mantenemos actualmente en nuestras instalaciones son:

Especie	Machos	Hembras	Juveniles	Ranas totales	Reproducción en cautiverio	Renacuajos	Instalación
Andinobates geminisae	16	15	17	48	+	15	Gamboa-ARCC
Andinobates cf. *minutus*	1	1	0	2	-	0	EVACC
Atelopus varius	53	18	581	652	+	>500	EVACC y Gamboa-ARCC
Craugastor evanesco	27	20	9	56	+		EVACC y Gamboa-ARCC
Ecnomiohyla miliaria	2	0	0	2	-	0	EVACC
E. veraguensis	2	0	0	2	-	0	EVACC
Incilius coniferus	1	1	1	3	-	0	EVACC (exhibición)
Gastrotheca cornuta	6	1	1	8	-		EVACC
Oophaga vicentei	21	30	6	57	+	>2	Gamboa-ARCC y EVACC
Total	**129**	**86**	**615**	**830**		**~517**	Gamboa-ARCC y EVACC

Nota: *Craugastor evanesco* y *Gastrotheca cornuta* no presentan etapa de renacuajo libre.

Al 31 de octubre de 2016, manteníamos 830 ranas de 9 especies de anuros del área de Donoso. Entre las especies que se mantienen en cautiverio están las cuatro Especies de Interés (EdI) del Proyecto Mina de Cobre Panamá: *Andinobates geminisae*, *Atelopus varius*, *Craugastor evanesco* y *Gastrotheca cornuta*. Adicionalmente, el proyecto PARC mantiene especies endémicas de distribución restringida: *Ecnomiohyla veraguensis* y *Oophaga vicentei*, que se encuentran en el área de Donoso y las cuales pueden ser consideradas como especies en peligro y vulnerable, respectivamente. Otras especies, también, provenientes del área de desarrollo del Proyecto Mina de Cobre Panamá, como *Ecnomiohyla miliaria* e *Incilius coniferus*, se tienen con el propósito de estudiarlas por ser especies raras o para exhibición. Además, dos ejemplares de una especie parecida a *Andinobates minutus*.

Prácticamente tenemos suficientes individuos fundadores para tres de estas especies: *Andinobates geminisae*, *Craugastor evanesco* y *Oophaga vicentei,* aunque sería recomendable obtener 1-2 hembras de *C. evanesco* y 9-11 individuos de *A. geminisae* más. Aún requerimos recolectar 6-8 hembras de *Atelopus varius*, ya que hemos colectado individuos de dos poblaciones distantes y sería conveniente tener más hembras de una de estas poblaciones. En el caso de *Gastrotheca cornuta*, tuvimos algo más de éxito encontrando individuos de esta especie durante este trimestre. En la expedición del mes de Octubre se recolectaron 5 machos de esta especie y se escucharon las vocalizaciones de otros, pero que no fueron observados; por lo que, próximamente estaremos visitando el mismo sitio en busca de más individuos.

Durante el período Agosto-Octubre, hubo varios eventos de reproducción de las especies *Andinobates geminisae* y *Oophaga vicentei*, especialmente de la primera especie. Estos eventos reproductivos y los descendientes que se añaden a la población, aún constituyen el inicio del establecimiento de poblaciones estables en cautiverio del programa de conservación ex situ. Aunque, con menos frecuencia, seguimos observando el "Spindly Leg Syndrome" (SLS) en post-metamorfos de ambas especies; el cual, impide el movimiento para una adecuada alimentación y conlleva a la muerte del individuo. La causa de este síndrome aún no ha sido dilucidada, pero los veterinarios del proyecto ya están enfocándose en este problema. Además, contamos con un biólogo pasante, Julio Camperio, quien tiene listo el arreglo de tanques, equipos y suministros, en espera de una puesta de tamaño adecuado, para iniciar los experimentos relacionados con la nutrición de renacuajos y el SLS. Al final del período, estimamos que se tenían unos 17 renacuajos de las dos especies, ya que no se pueden contar todos los renacuajos por encontrarse entre las axilas de las hojas de las plantas bromelias.

Post-metamorfo de *Andinobates geminisae.* Septiembre 2016.

En este período, hubo una puesta de *Atelopus varius* que resultó en más de 500 renacuajos; además, hubo una puesta de huevos por otra pareja, cuyos embriones se están desarrollando. De las puestas fértiles de *A. varius* reportadas en períodos pasados, actualmente tenemos 581 juveniles de esta especie. Estos resultados constituyen un gran avance hacia la conformación de poblaciones estables en cautiverio de esta especie. Un evento de reproducción notable, fue la puesta de huevos fértiles por una pareja de *Craugastor evanesco*. Estos huevos fueron puestos hace 6 semanas en un hueco excavado en la arena, probablemente hecho por la

hembra. Debido a que no se puede perturbar el nido, no se ha sido posible contar el número de huevos, pero se han visto al menos10 huevos con embriones en desarrollo. Esta especie tiene desarrollo directo; por lo que, si salen ranitas de estos huevos, sería la primera vez que se logra reproducir a esta especie en cautiverio.

Adicionalmente, se completó la introducción de información de los individuos provenientes de Donoso y que se mantienen en el EVACC en la base de datos "Zoological Information Management System" (ZIMS) (http://www2.isis.org). Por consiguiente, todas las ranas adultas de Donoso que están en el programa de conservación ex situ de Gamboa-ARCC y EVACC se encuentran registrados en dicho sistema. Este sistema de manejo de información es un programa de estándares mundiales que permite capturar y compartir datos zoológicos. El mismo facilita el manejo del inventario de animales, el control de la conformación genética y demográfica de las colecciones de animales vivos, la identificación de animales no relacionados para realizar cruces, el mantenimiento de un registro del estado de salud y el tratamiento que se le ha dado a cada individuo, entre otros.

Objetivo 4. - Estudio de los agentes patógenos de anfibios, hongos* Batrachochytrium dendrobatidis *y* Fusarium *cf.* solani*, en la región de Donoso.

Durante este período, estamos manteniendo y esperando a que individuos de *Atelopus varius,* nacidos en cautiverio se desarrollen y crezcan hasta una talla adecuada, con el propósito de utilizar una porción de éstos en experimentos con hongos (i.e., *B. dendrobatidis* y *F. keratoplasticum*) y tratamientos (i.e., soluciones de Itraconazol y Betadine). Estos experimentos son importantes para determinar si existe una interacción entre ambos hongos que aumenta la mortalidad en ranas y determinar cuáles tratamientos son los más indicados para curarlas.

También, continuamos con la búsqueda de técnicas moleculares y cebadores nuevos para la detección de *Fusarium* spp. y *F. keratoplasticum*. Los investigadores Robert Fleischer y Nancy McInerney del National Zoological Park del Instituto Smithsonian nos han apoyado en el diseño del juego de cebadores (primers) y sonda (probe) para la detección de *Fusarium* por medio de la técnica de qPCR. Estos cebadores y la sonda serán probados por un estudiante de post-grado de George Mason University, Blake Klocke, para asegurarnos que éstos funcionan antes de usarlos en Panamá. Adicionalmente, el doctor veterinario Allan Pessier ha estado realizando exámenes histopatológicos en muestras obtenidas de ranas de *A. varius* aparentemente infectadas por *F. keratoplasticum* provenientes del Gamboa-ARCC y EVACC.

En relación a la prevalencia del hongo *B. dendrobatidis* en los anfibios que fueron encontrados en el área de Donoso, durante la expedición realizada en el mes de septiembre, se obtuvieron muestras de la piel con hisopos de 84 individuos. Los sitios donde se obtuvieron estas muestras fueron: Quebrada Valle Grande y la cabecera del Río Petaquilla. En la expedición llevada a cabo en el mes de octubre, se obtuvieron hisopos de 64 individuos, encontrados en los sitios 4CS4, 4CS6, Quebrada Valle Grande y la cabecera del Río Petaquilla. Los anfibios que fueron muestreados incluyen individuos de las especies EdI colectadas e individuos de éstas y otras especies que fueron liberadas inmediatamente después de tomarles la muestra. Por los contratiempos antes mencionados (ver sección del Objetivo 2), no fue posible realizar todos los análisis de qPCR que se tenían previstos para diagnosticar la presencia del *B. dendrobatidis*; por lo que, dichas muestras serán procesadas próximamente.